

BAB EMPAT

PERBINCANGAN

4.1 Analisis KLN Ekstrak *Cassia alata* L. dan *Cassia tora* L.

Analisis KLN dijalankan ke atas sampel ekstrak daun *Cassia alata* L. dan *Cassia tora* L. Penskrinan fitokimia dijalankan dengan menggunakan KLN kerana ia merupakan kaedah yang ringkas, mudah dan tidak mahal. Penggunaan reagen-reagen tertentu juga memudahkan pengenalpastian sebatian kimia yang hadir (Houghton dan Raman, 1998).

Berdasarkan analisis KLN yang telah dijalankan lapan antrakuinon, satu flavanoid dan sembilan terpenoid dikesan pada ekstrak *Cassia alata* L. manakala pada ekstrak *Cassia tora* L. pula terdapat tiga antrakuinon, lapan terpenoid dan satu flavanoid. Antrakuinon adalah satu sebatian kimia dalam kumpulan kuinon yang merupakan pigmen semulajadi pada tumbuhan, kulat dan juga serangga. Kebanyakan pigmen antrakuinon hadir pada tumbuhan peringkat tinggi dari famili Rubiaceae, Polygonaceae, Rhamnaceae dan Leguminosae (Ikan, 1969).

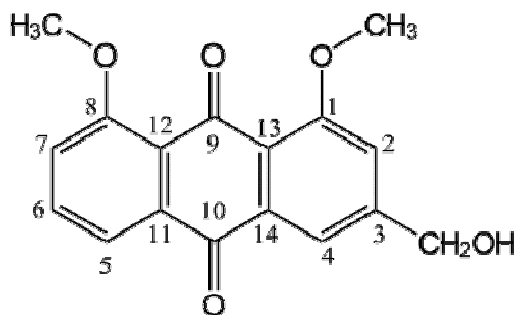
4.2 Pencirian Struktur Sebatian Kimia *Cassia alata* L.

4.2.1 Sebatian Kimia CA-1

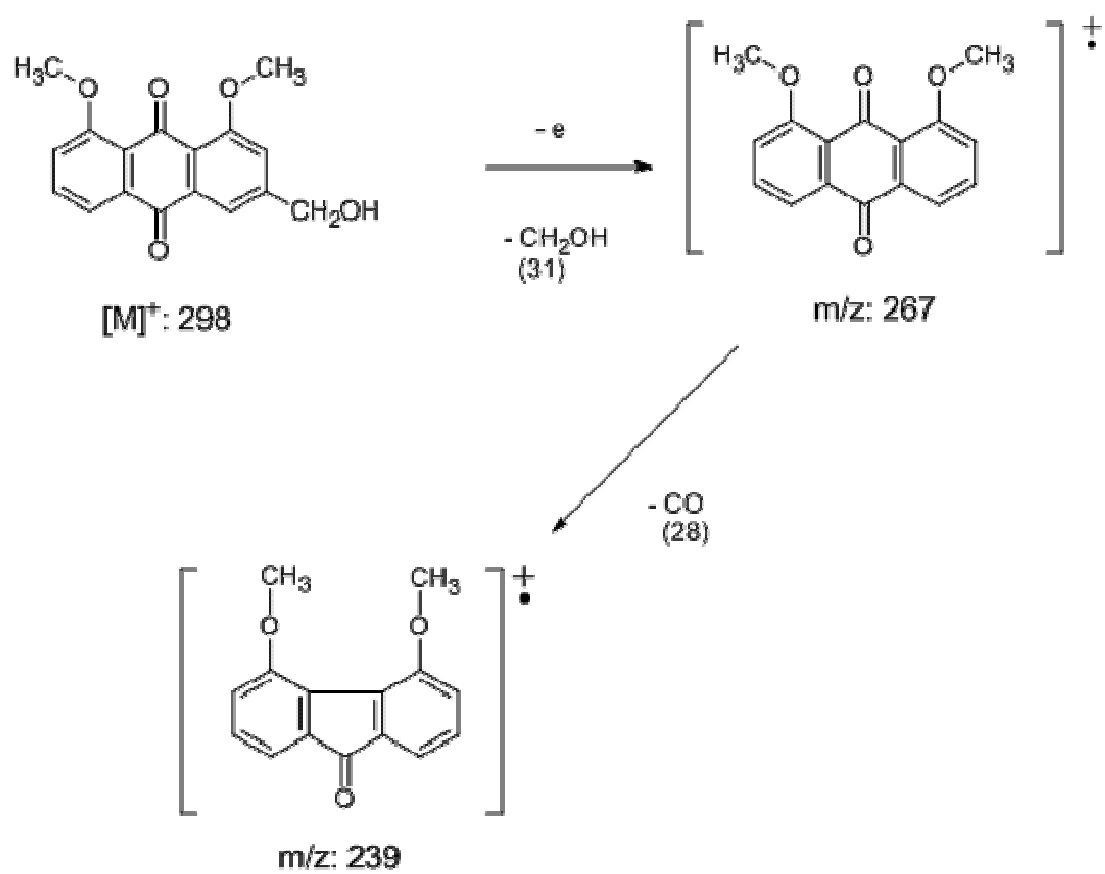
Sebatian kimia CA-1 adalah amorfus berwarna jingga, bertakat lebur 228°C [Lit: $227\text{-}229^{\circ}\text{C}$ (Alexander *et al.*, 1980)] dengan nilai R_f 0.92 (Toluena:Etil asetat:Asid asetik : 50:48:2) dan 0.69 (Kloroform 100%). Spektrum UL (Rajah 4.3) menunjukkan penyerapan yang kuat pada panjang gelombang 430 nm, 257 nm dan 231 nm. Ia menunjukkan kehadiran rangka kuinon pada sebatian kimia CA-1 (Muhtadi dan Moss, 1969).

Spektrum jisim (Rajah 4.4) memberikan puncak ion molekul yang juga merupakan puncak dasar spektrum pada m/z 298 (100) $[M^+]$ yang bersesuaian dengan molekul formula $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_5$. Ion molekul menyerpih menjadi ion m/z 267 (98) $[M^+ - \text{CH}_2\text{OH}]$. Sebatian karbonil disingkirkan menghasilkan serpihan ion m/z 239 (26) $[267 - \text{CO}]$. Pola penyerpihan sebatian kimia CA-1 yang dicadangkan seperti pada Rajah 4.1.

Berdasarkan analisis spektrum dan perbandingan data spektrum jisim dengan literatur (Pfleger *et al.*, 1992), sebatian kimia CA-1 disahkan sebagai aloe-emodin termetil (34).



(34) Aloe-emodin termetil



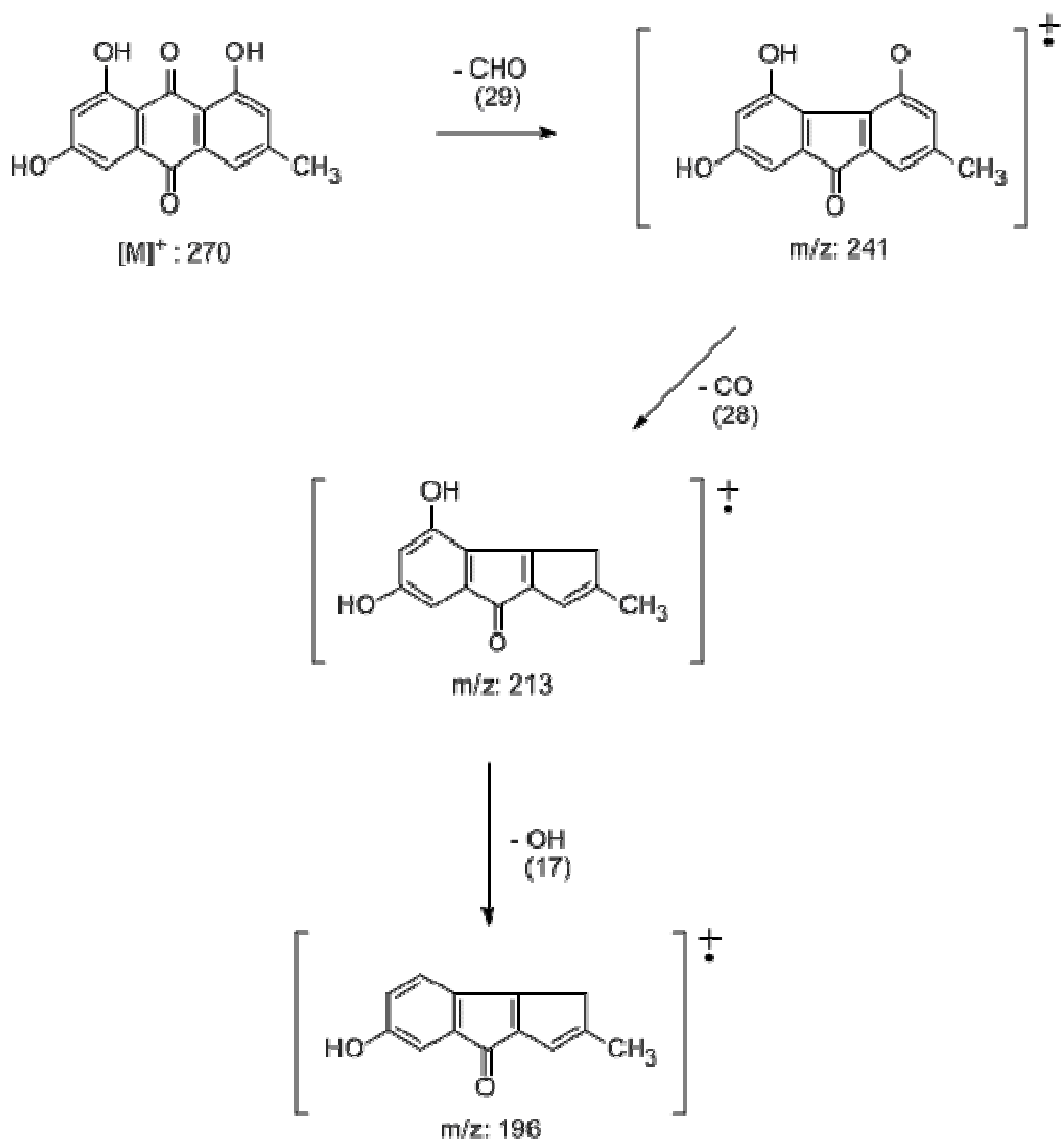
Rajah 4.1: Pola Penyerpihan Sebatian Kimia CA-1

4.2.2 Sebatian Kimia CA-10

Sebatian kimia CA-10 merupakan hablur berbentuk jejarum halus, berwarna kuning kejinggaan, bertakat lebur 255°C [Lit: $256\text{-}257^{\circ}\text{C}$ (Ee *et al.*, 2002)] dan R_f 0.74 dalam Toluena:Etil asetat:Asid asetik (50:48:2). Spektrum UL (Rajah 4.5) menunjukkan penyerapan yang kuat pada panjang gelombang 428.5 nm, 286.5 nm, 255.5 nm dan 225.5 nm. Ia membuktikan bahawa wujudnya rangka kuinon pada sebatian kimia CA-10 dan sama dengan spektrum UL yang dinyatakan oleh Villaroya dan Santos, (1976).

Spektrum infra merah sebatian kimia CA-10 (Rajah 4.6) menunjukkan jalur penyerapan utama yang lebar pada 3431.23 cm^{-1} mencadangkan kehadiran kumpulan hidroksil. Regangan C-H tercerap pada 2364.36 cm^{-1} dan 2345.58 cm^{-1} manakala terdapat puncak penyerapan pada 1625.58 cm^{-1} mencirikan kehadiran kumpulan karbonil yang mengalami pengikatan hidrogen (kelat) dengan kumpulan hidroksil dalam sebatian. Ini adalah ciri utama untuk struktur sebatian kimia antrakuinon dengan kumpulan hidroksil terletak pada kedudukan *orto* kepada kumpulan karbonil (Villaroya dan Santos, 1976).

Spektrum jisim (Rajah 4.7) memberikan puncak ion molekul yang juga merupakan puncak dasar spektrum pada m/z 270 (100) $[\text{M}^+]$ yang bersesuaian dengan molekul formula $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$. Ion molekul menyerpih menjadi ion m/z 241 (47) $[\text{M}^+ - \text{CHO}]$. Kemudian sebatian karbonil disingkirkan menghasilkan serpihan ion m/z 213 (5) dan diikuti dengan penyingkiran kumpulan hidroksil membentuk karbokation m/z 196 (4). Pola penyerpihan sebatian kimia CA-10 yang dicadangkan seperti pada Rajah 4.2.

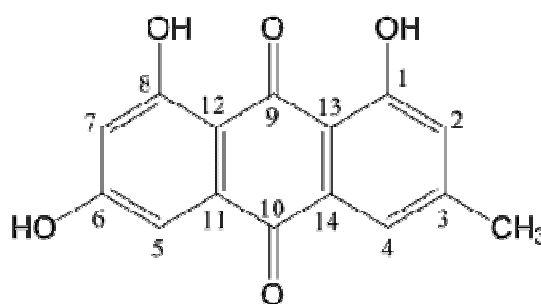


Rajah 4.2: Pola Penyerpihan Sebatian Kimia CA-10

Spektrum RMN¹H (Rajah 4.8) sebatian kimia CA-10 menunjukkan dua puncak singlet yang beresonans di kawasan medan rendah pada $\delta 11.92$ dan $\delta 12.01$ dimana ia terkamir untuk satu proton yang dipadankan kepada dua kumpulan hidroksil pada kedudukan C-8 dan C-1. Puncak-puncak singlet pada $\delta 7.07$ dan $\delta 7.39$ masing-masing merupakan puncak H-7 dan H-5 manakala proton H-2 dan H-4 dicirikan oleh dua puncak dublet dengan pemalar gandingan, $J = 2.44$ Hz masing-masing beresonans pada

$\delta 6.53$ dan $\delta 7.03$. Satu puncak singlet pada $\delta 2.35$ bersesuaian dengan proton metil dalam sebatian.

Spektrum RMN^{13}C (Rajah 4.9) menunjukkan sejumlah 15 puncak karbon serapan yang bersesuaian dengan 15 atom karbon yang terdapat dalam molekulnya. Dua puncak di kawasan medan rendah iaitu $\delta 181.54$ dan $\delta 189.79$ menunjukkan kehadiran dua kumpulan karbonil yang terdapat pada struktur rangka antrakuinon. Puncak-puncak C-O iaitu pada C-1, C-6 dan C-8 dicirikan oleh anjakan kimia $\delta 164.63$, $\delta 148.53$ dan $\delta 161.59$. Karbon kuartet (C-11, C-12, C-13, C14) masing-masing beresonans pada $\delta 132.89$, $\delta 113.44$, $\delta 109.09$ dan $\delta 135.22$. Empat karbon metina (C-2, C-4, C-5, C-7) pula dicerap pada puncak $\delta 102.15$, $\delta 108.98$, $\delta 120.69$ dan $\delta 124.35$ manakala puncak metil aromatik dicirikan pada $\delta 21.73$. Berdasarkan analisis spektrum dan perbandingan data spektroskopi RMN^1H dan RMN^{13}C dengan literatur (Jadual 4.1 dan Jadual 4.2), sebatian kimia CA-10 disahkan sebagai emodin (**9**) sama dengan sebatian antrakuinon yang telah diasingkan daripada *Cassia nigricans* Vahl. (Ayo *et al.*, 2007).



(9) Emodin

Jadual 4.1 : Perbandingan Data RMN¹H CA-10 Dengan Literatur

Proton	δ CA-10	* Emodin
3H, s, CH ₃	2.35	2.39
1H, d, J = 2.44 Hz, H-2	6.53	6.50
2H, d, J = 2.44 Hz, H-4	7.03	6.97
1H, s, H-7	7.07	7.13
1H, s, OH-8	11.92	11.90
1H, s, OH-1	12.01	12.06

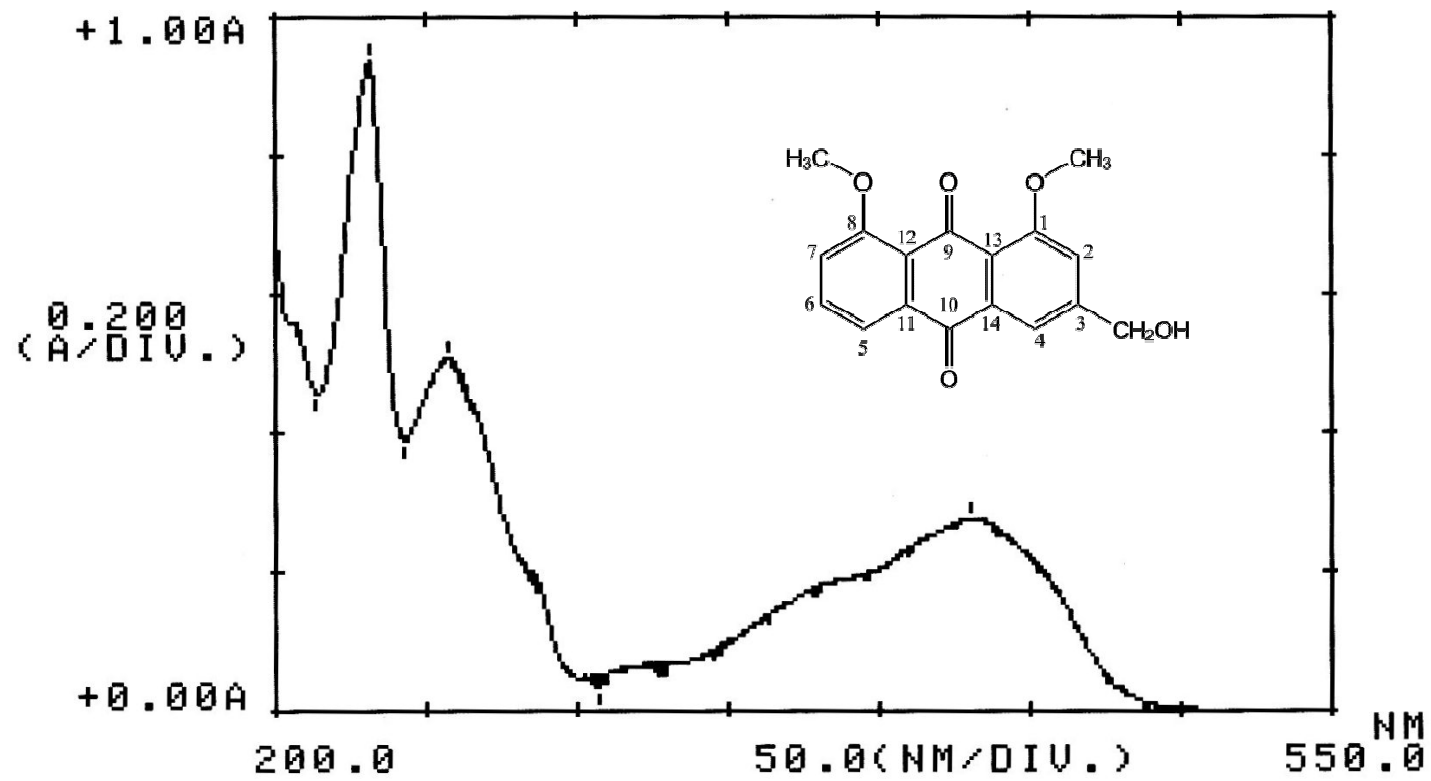
* Ayo *et al.*, 2007.

Jadual 4.2: Perbandingan Data RMN¹³C CA-10 Dengan Literatur

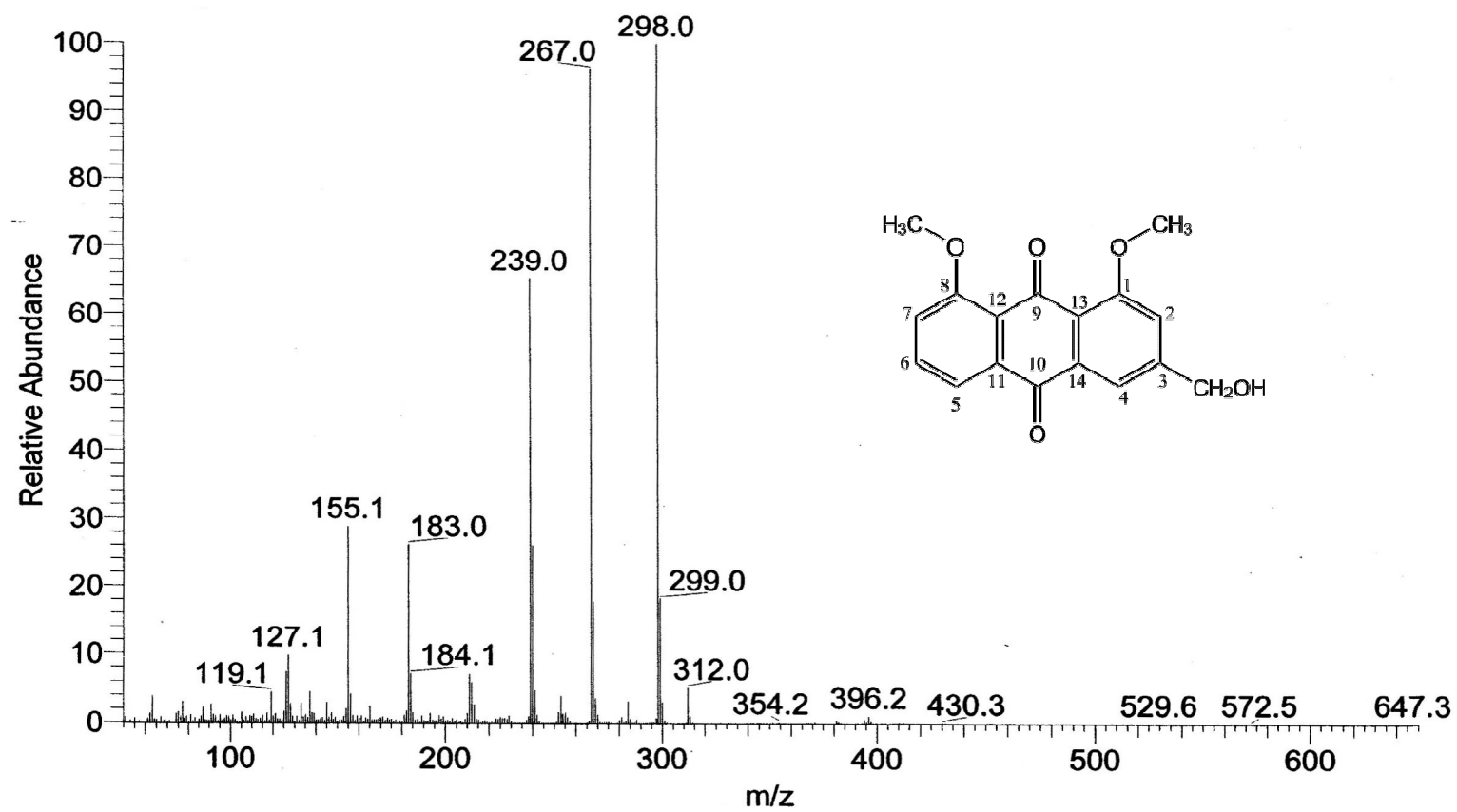
Karbon	δ CA-10	* Emodin
C=O	190.79	189.50
C=O	181.54	181.10
C-3	165.71	165.60
C-1	164.63	164.40
C-8	161.59	161.40
C-6	148.53	148.10
C-14	135.22	134.90
C-11	132.89	132.20
C-7	124.35	124.00
C-5	120.69	120.40
C-12	113.44	113.20
C-13	109.09	108.90
C-4	108.98	108.80
C-2	108.15	107.90
CH ₃	21.73	21.50

* Ayo *et al.*, 2007.

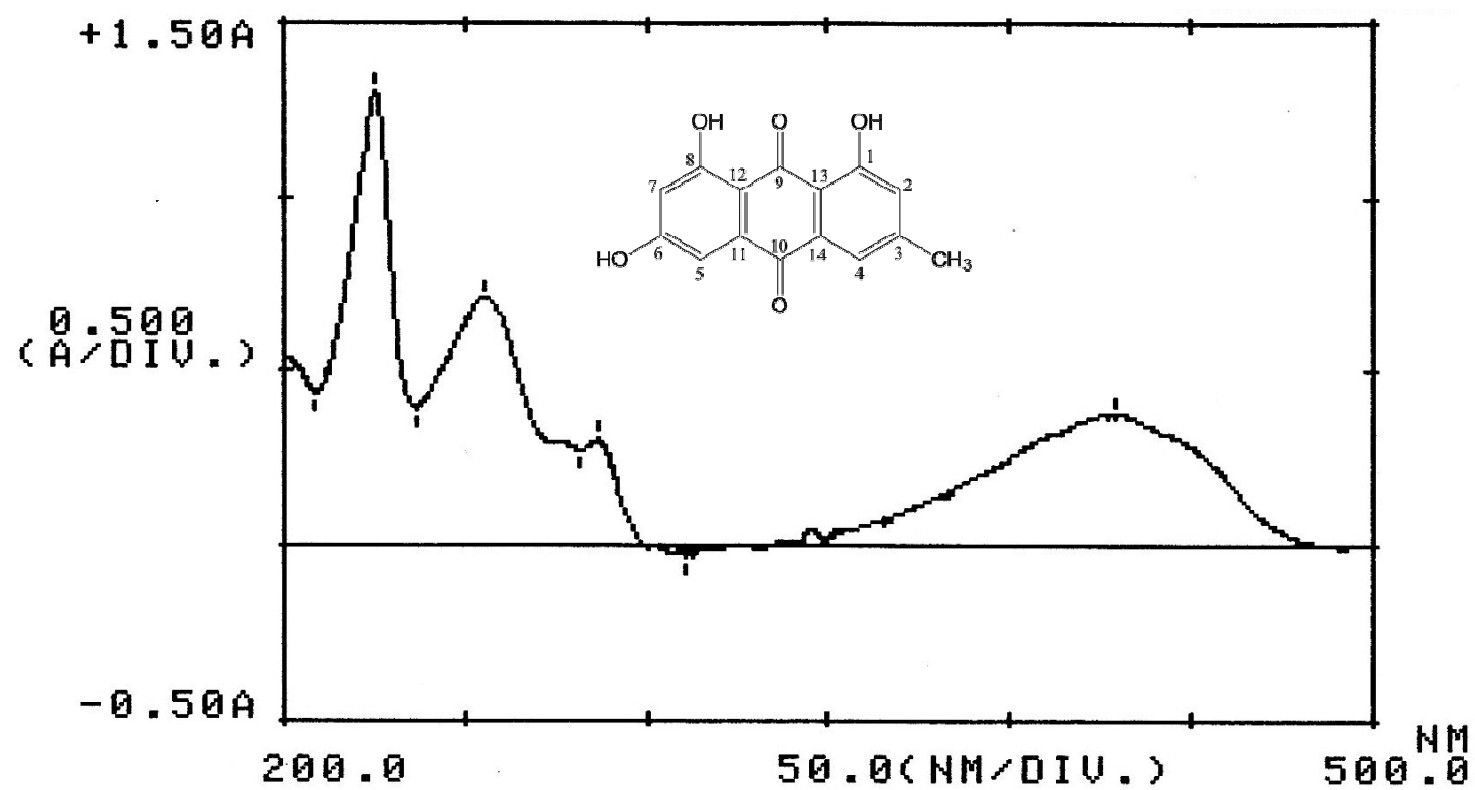
Rajah 4.3 : Spektrum UL Sebastian Kimia CA-1



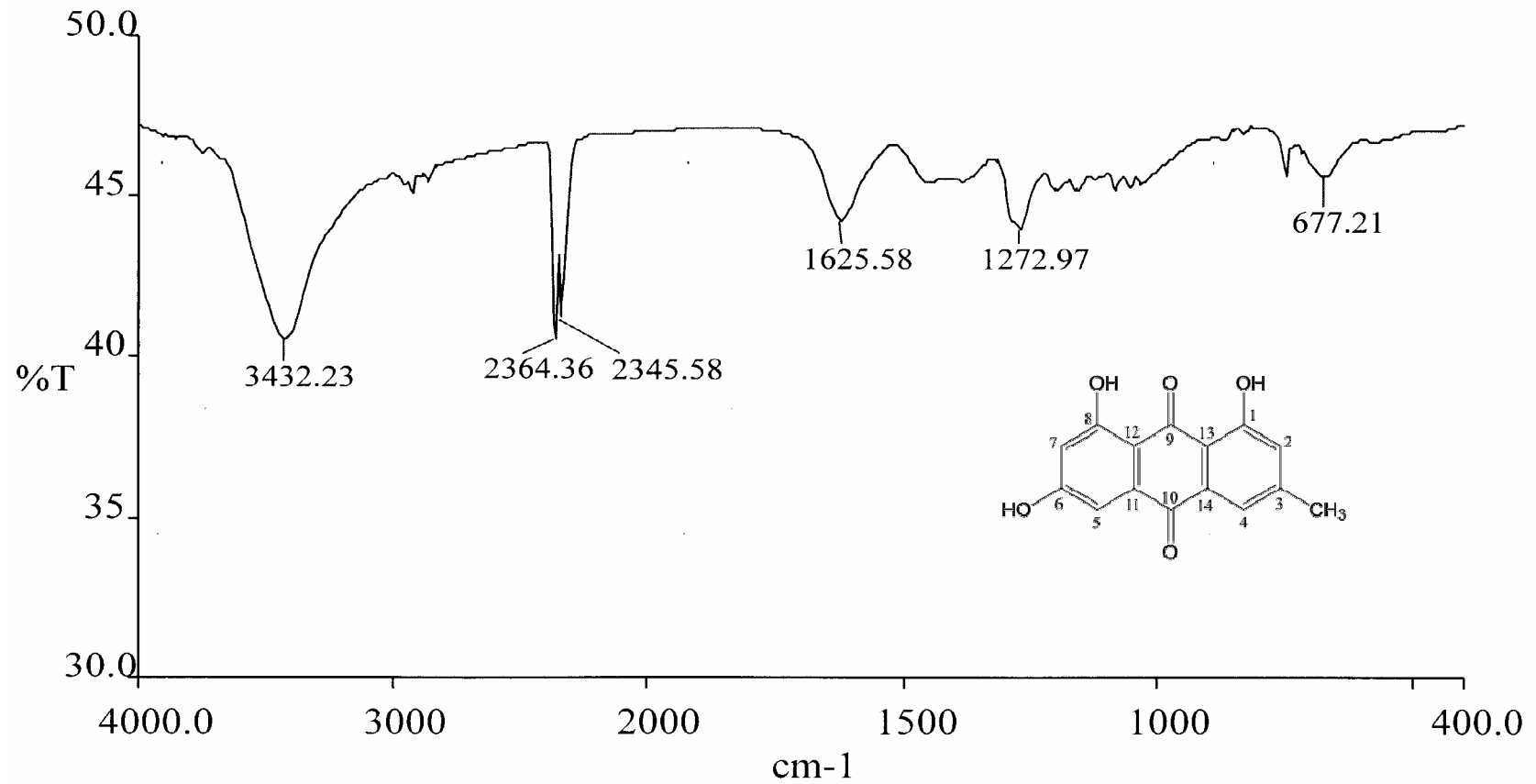
Rajah 4.4 : Spektrum Jisim Sebatian Kimia CA-1



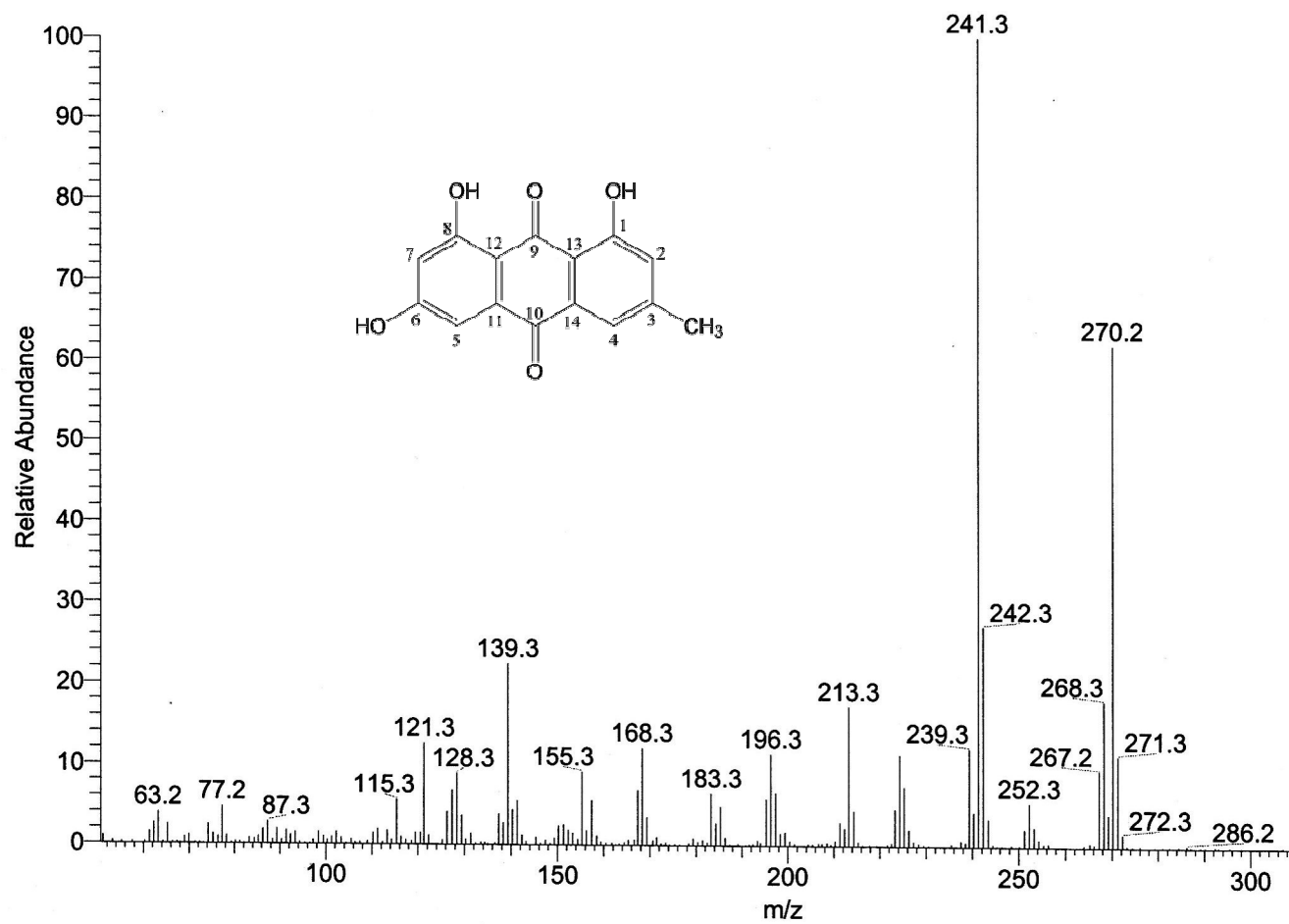
Rajah 4.5 : Spektrum UL Sebastian Kimia CA-10



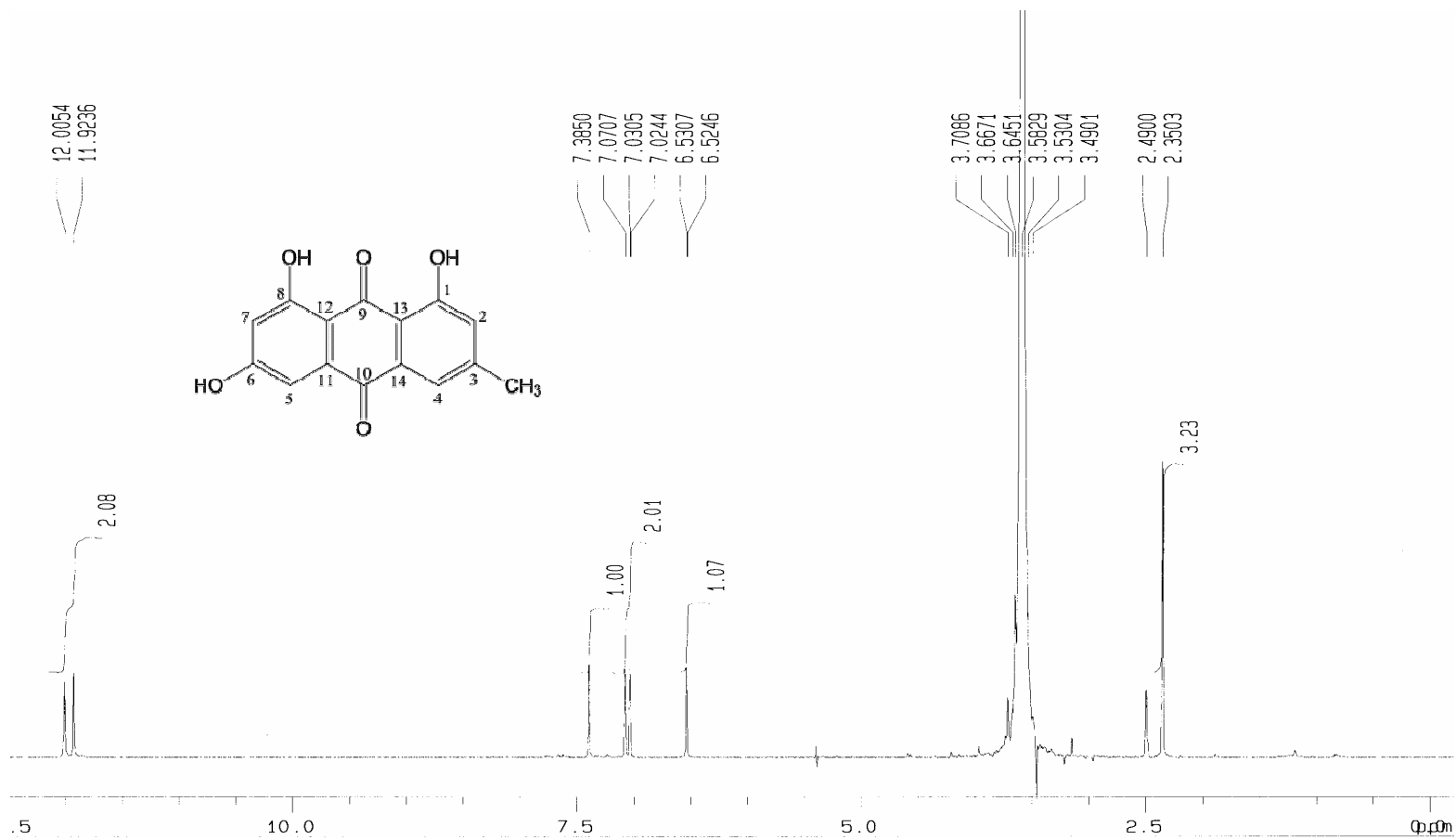
Rajah 4.6 : Spektrum Infra Merah Sebastian Kimia CA-10



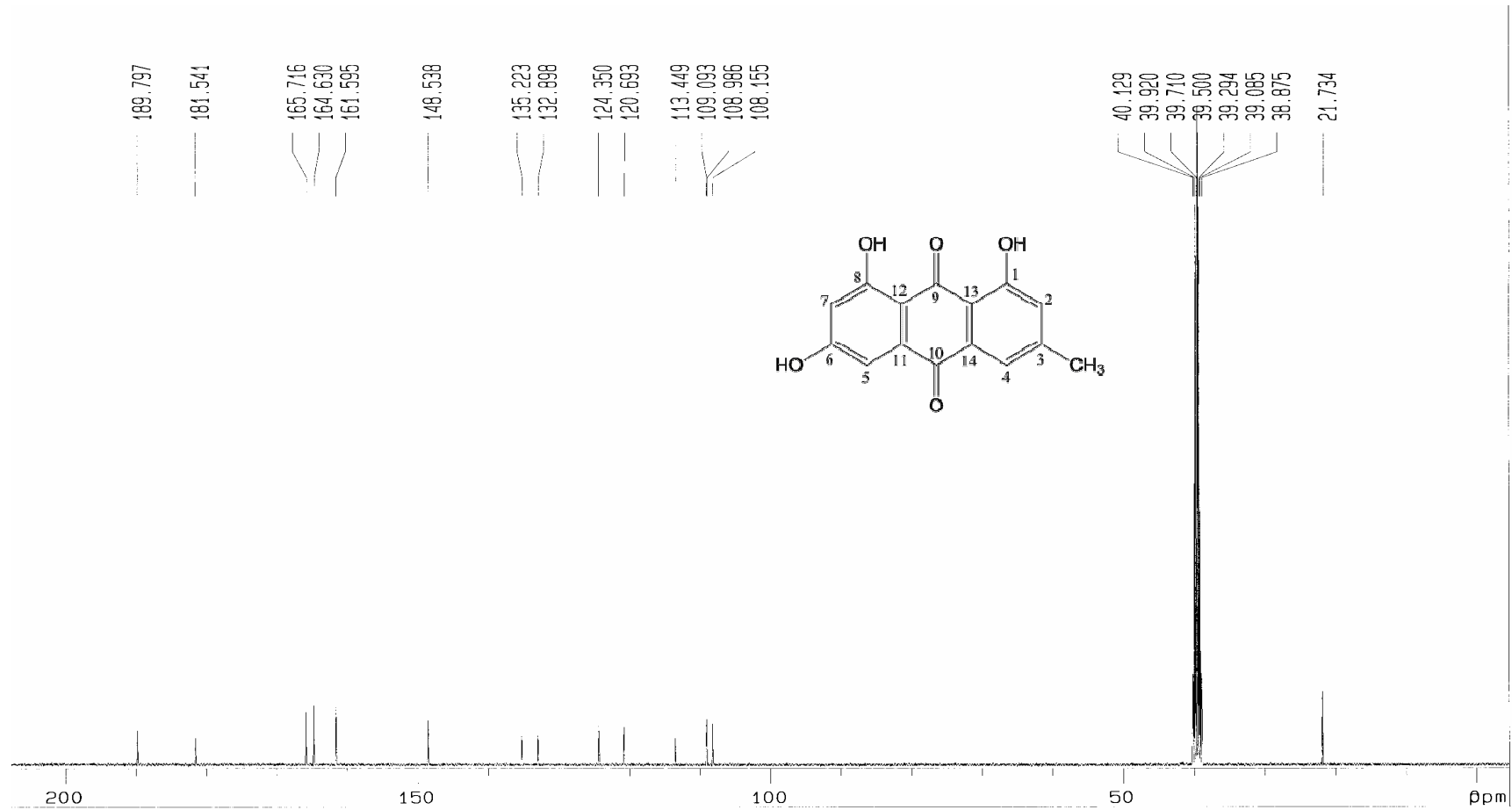
Rajah 4.7 : Spektrum Jisim Sebatian Kimia CA-10



Rajah 4.8 : Spektrum RMN¹H Sebatian Kimia CA-10



Rajah 4.9 : Spektrum RMN¹³C Sebatian Kimia CA-10



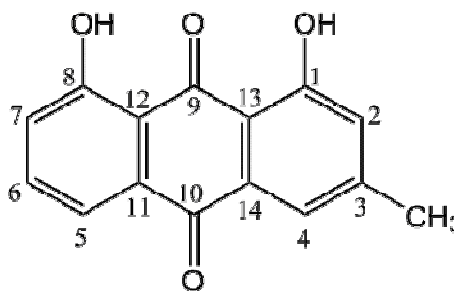
4.3 Pencirian Struktur Sebatian Kimia *Cassia tora* L.

4.3.1 Sebatian Kimia CT-1

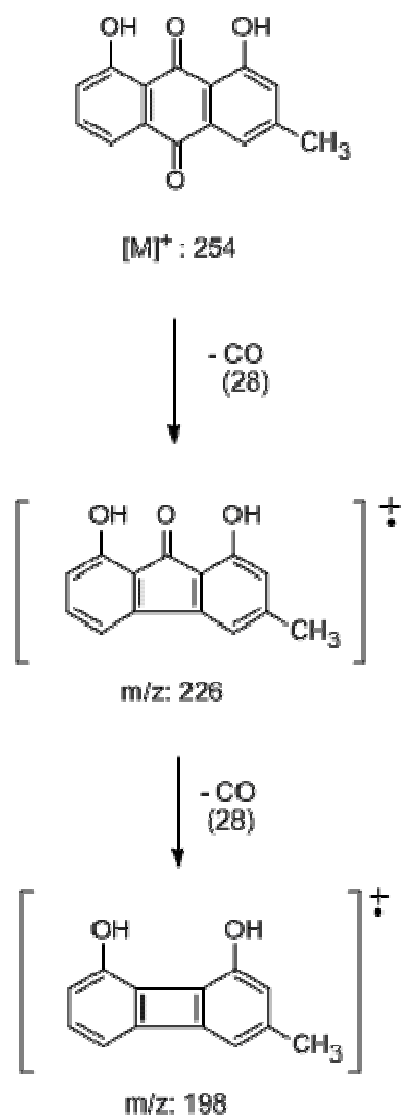
Sebatian kimia CT-1 merupakan hablur berbentuk jejarum halus berwarna jingga kemerahan, bertakat lebur 198°C [Lit: $197\text{--}198^{\circ}\text{C}$ (Fairbain dan El-Muhtadi, 1972)] dengan nilai R_f 0.84 (Toluen:Etil asetat:Asid asetik : 50:48:2). Spektrum UL (Rajah 4.12) menunjukkan penyerapan yang kuat pada panjang gelombang 429 nm, 224.5 nm dan 212.5 nm. Ia menunjukkan kehadiran rangka kuinon pada sebatian kimia CT-1 (Harbone, 1973).

Spektrum jisim (Rajah 4.13) memberikan puncak ion molekul yang merupakan puncak dasar spektrum pada m/z 254 (100) $[\text{M}^+]$ yang bersesuaian dengan molekul formula $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$. Ion molekul menyerpih dengan penyingkiran sebatian karbonil menjadi ion m/z 226 (29) $[\text{M}^+ - \text{CO}]$. Sebatian karbonil disingkirkan sekali lagi menghasilkan serpihan ion m/z 198 (18) $[\text{M}^+ - 2\text{CO}]$. Pola penyerpihan sebatian kimia CT-1 yang dicadangkan seperti pada Rajah 4.10.

Berdasarkan analisis spektrum dan perbandingan data spektrum jisim dengan literatur (Anderson, 1986 dan Ching *et al.*, 2001), sebatian kimia CT-1 disahkan sebagai krisofanol (8).



(8) krisofanol

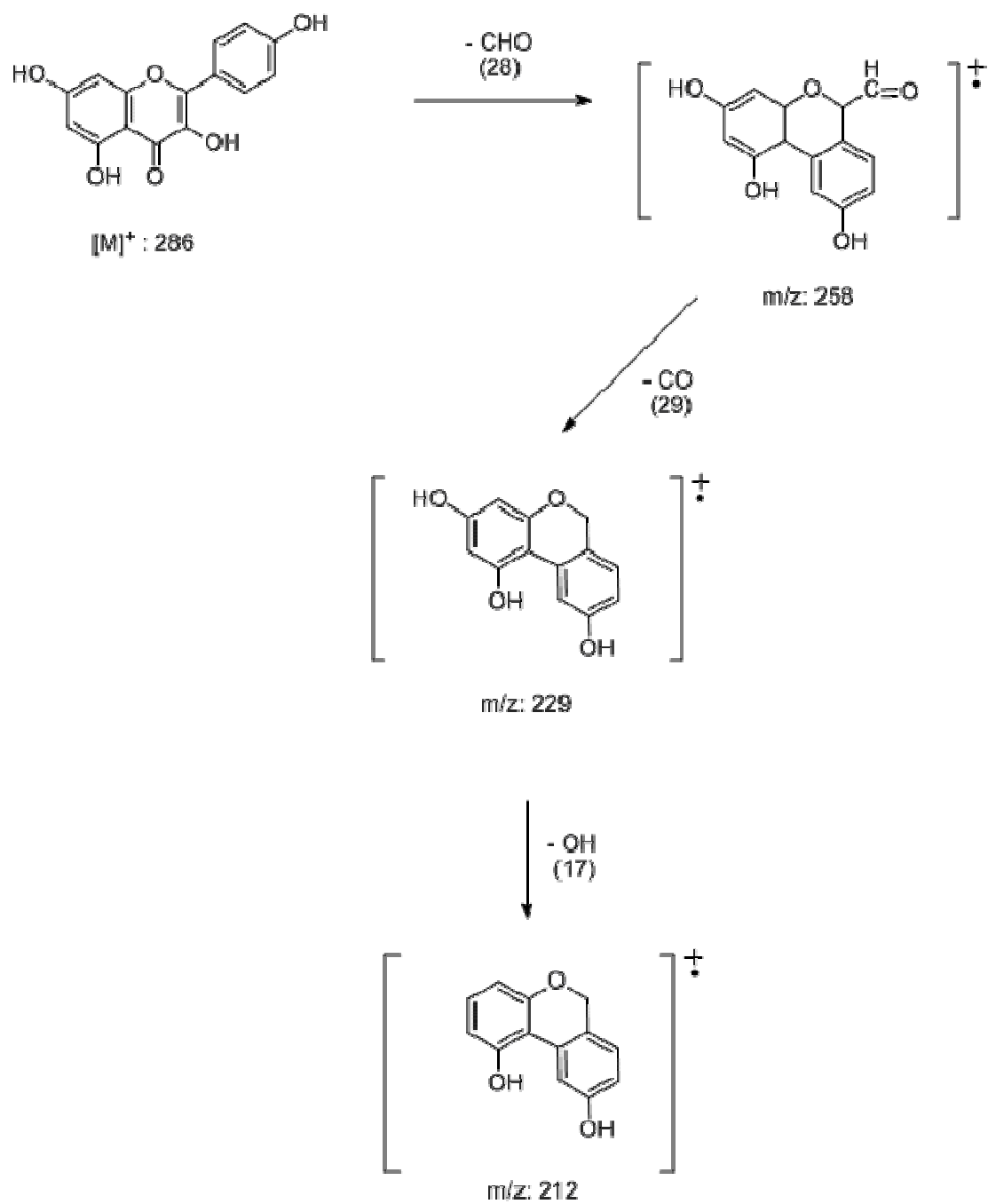


Rajah 4.10: Pola Penyerpihan Sebatian Kimia CT-1

4.3.2 Sebatian Kimia CT-16

Sebatian kimia CT-16 adalah pepejal berwarna kuning pucat, bertakat lebur 266°C [Lit: $267\text{-}269^{\circ}\text{C}$ (Chang *et al.*, 2000)] dan R_f 0.67 dalam Toluena:Etil asetat:Asid asetik (50:48:2). Spektrum UL (Rajah 4.14) menunjukkan penyerapan panjang gelombang pada 267 nm dan 367 nm yang merupakan ciri utama sebatian flavonol (Mabry *et al.*, 1970) dan sama dengan spektrum UL sebatian flavanoid kaempferol yang telah diasingkan oleh Amani *et al.*, (2006) dari *Alhagi maurorum*.

Spektrum jisim (Rajah 4.15) menunjukkan puncak ion molekul yang juga merupakan puncak dasar spektrum pada m/z 286 (M^+) yang bersesuaian dengan molekul formula $C_{15}H_{10}O_6$. Penyingkiran radikal CHO^{\bullet} menyebabkan berlakunya penyusunan semula dimana gelang-A dan gelang-B terikat bersama membentuk tiga gelang. Ikatan terbentuk di antara gelang-A dengan C-2' di gelang-C menghasilkan struktur pada m/z 258 dan diikuti dengan penyingkiran molekul CO membentuk fragmen ion pada m/z 229 (March dan Miao, 2004). Karbokation m/z 212 terbentuk melalui penyingkiran hidroksil. Pola penyerpihan sebatian kimia CT-16 yang dicadangkan seperti pada Rajah 4.11.

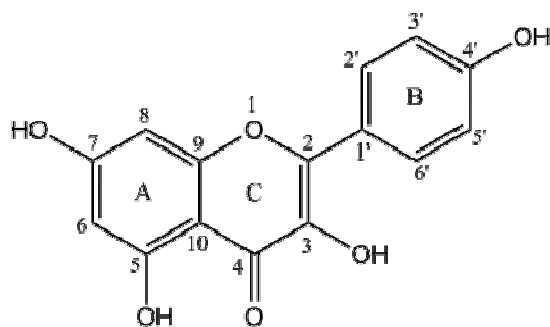


Rajah 4.11 : Pola penyerpihan Sebatian Kimia CT-16

Spektrum RMN¹H (Rajah 4.16) menunjukkan dua puncak dublet pada δ 6.40 dan δ 6.14 dengan pemalar gandingan, $J = 1.8$ Hz dan 2.28 Hz masing-masing merupakan proton pada H-8 dan H-6. Puncak singlet proton hidroksil pada C-5 beresonans di kawasan medan rendah dengan anjakan kimia δ 12.43. Ini adalah disebabkan wujudnya ikatan hidrogen (kelat) pada kumpulan hidroksil dengan kumpulan karbonil pada C-4. Terdapat dua puncak dublet masing-masing beresonans pada δ 7.99 dan δ 6.88 dengan pemalar gandingan, $J = 1.8$ Hz dan 9.16 Hz merupakan proton pada H-2',6' dan H-3',5'.

Spektrum RMN¹³C (Rajah 4.17) menunjukkan 15 puncak yang bersesuaian dengan kehadiran 15 karbon dalam sebatian. Satu puncak di kawasan medan rendah dengan anjakan kimia δ 176.42 menunjukkan kehadiran kumpulan karbonil pada C-4. Karbon yang hadir pada rangka aromatik (C-2, C-3, C-9, C-10) dicirikan pada anjakan kimia δ 147.35, δ 136.16, δ 156.71 dan δ 103.55. Puncak-puncak C-O yang hadir pada C-3, C-5 dan C-7 beresonans pada δ 136.16, δ 161.12 dan δ 164.41. Puncak karbon olefinik dicerap dikawasan medan tinggi pada C-6 dan C-8 dengan anjakan kimia δ 98.74 dan δ 94.02. Empat karbon metina iaitu C-2' dan C-6', C-3' dan C-5' masing-masing beresonans pada δ 130.03 dan δ 115.98.

Data RMN¹H dan RMN¹³C sebatian kimia CT-16 dibandingkan dengan data spektrosopi sebatian flavanoid yang telah diasingkan oleh Lin *et al.*, (2000) daripada *Solanum inacum* L seperti dalam Jadual 4.3 dan 4.4. Disahkan bahawa sebatian kimia CT-16 adalah kaempferol (**3**).



(3) Kaempferol

Jadual 4.3 : Perbandingan Data RMN¹H CT-16 Dengan Literatur

Proton	δ CT-16	* Kaempferol
1H, d, J = 2.28 Hz, H-6	6.15	6.16
1H, d, J = 1.80 Hz, H-8	6.40	6.37
2H, d, J = 9.16 Hz, H-3',5'	6.88	6.89
2H, d, J = 1.80 Hz, H-2',6'	7.99	8.05
1H, s, OH-5	12.43	12.46

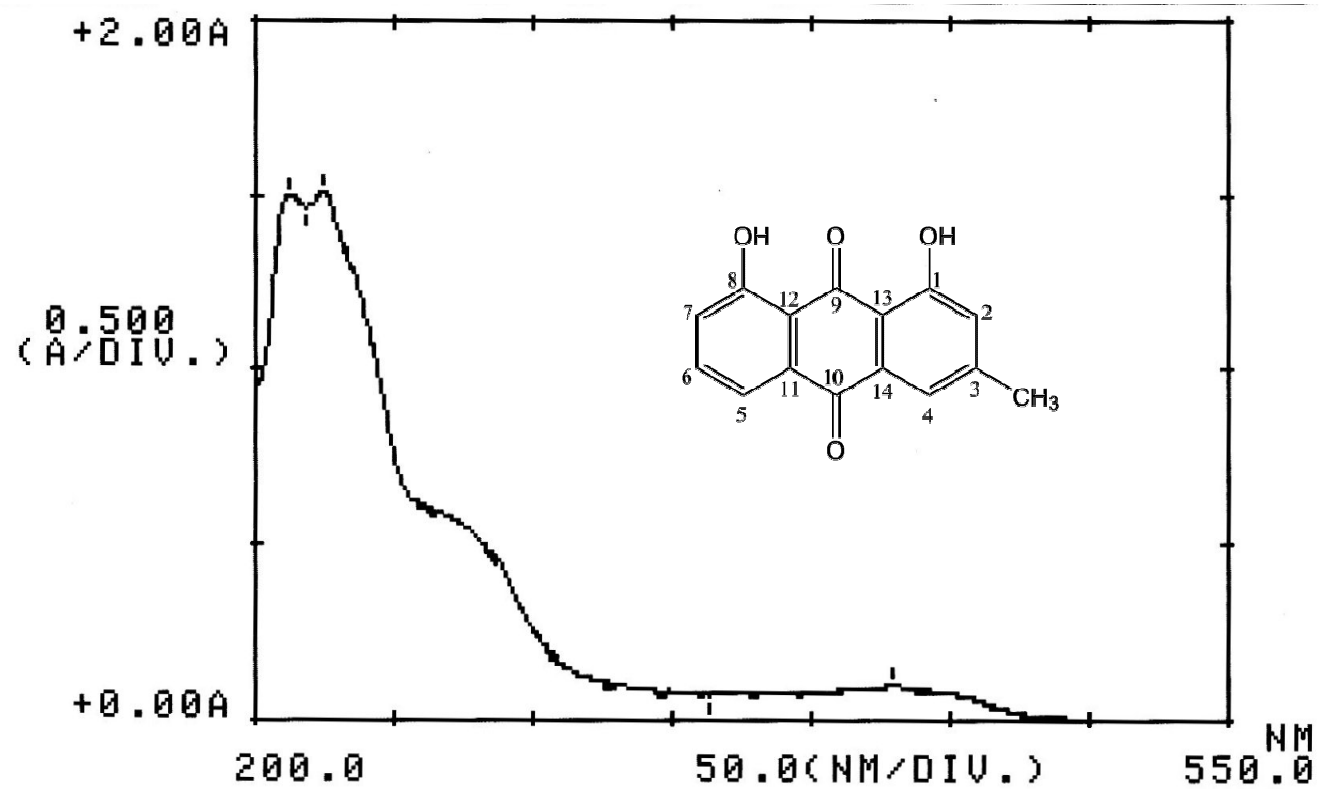
* Lin *et al.*, 2000.

Jadual 4.4: Perbandingan Data RMN¹³C CT-16 Dengan Literatur

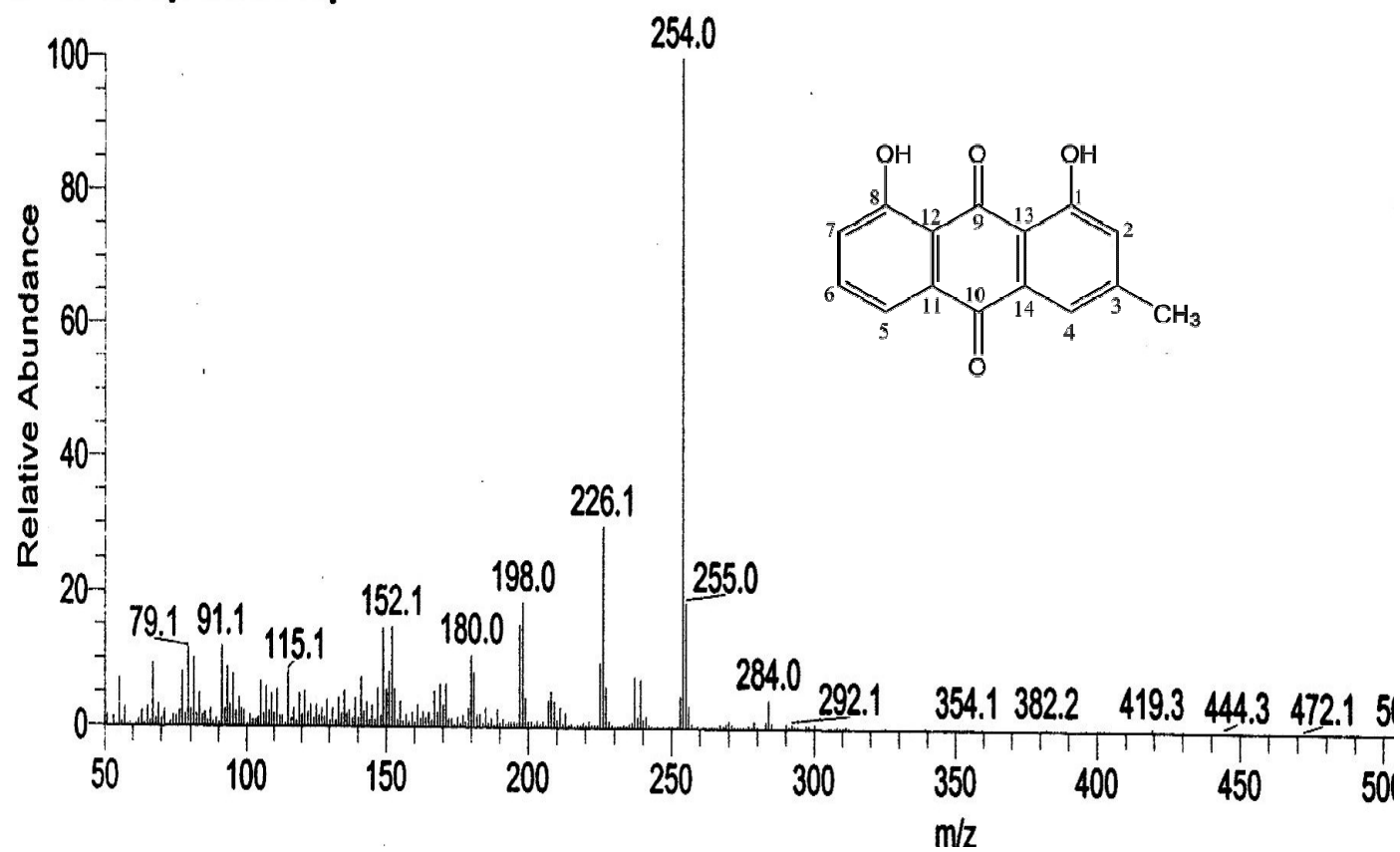
Karbon	δ CT-16	* Kaempferol
C=O	176.42	175.80
C-7	164.41	163.50
C-5	161.21	160.50
C-4'	159.69	158.60
C-9	156.71	156.00
C-2	147.36	146.60
C-3	136.17	135.40
C-2',6'	130.03	129.40
C-1'	122.19	121.60
C-3',5'	115.98	115.30
C-10	103.55	102.70
C-6	98.73	98.30
C-8	94.02	93.40

* Lin *et al.*, 2000.

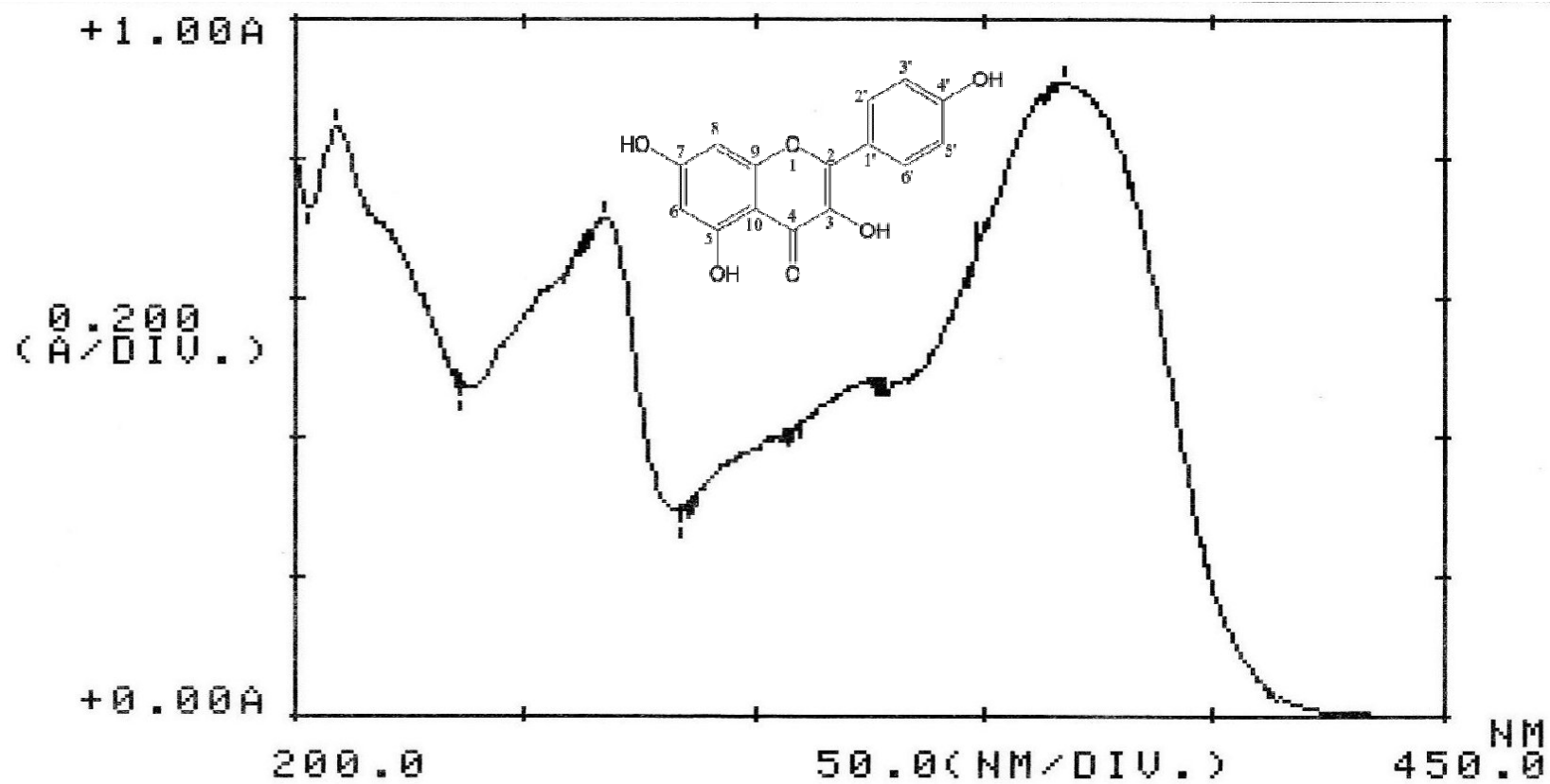
Rajah 4.12 : Spektrum UL Sebatian Kimia CT-1



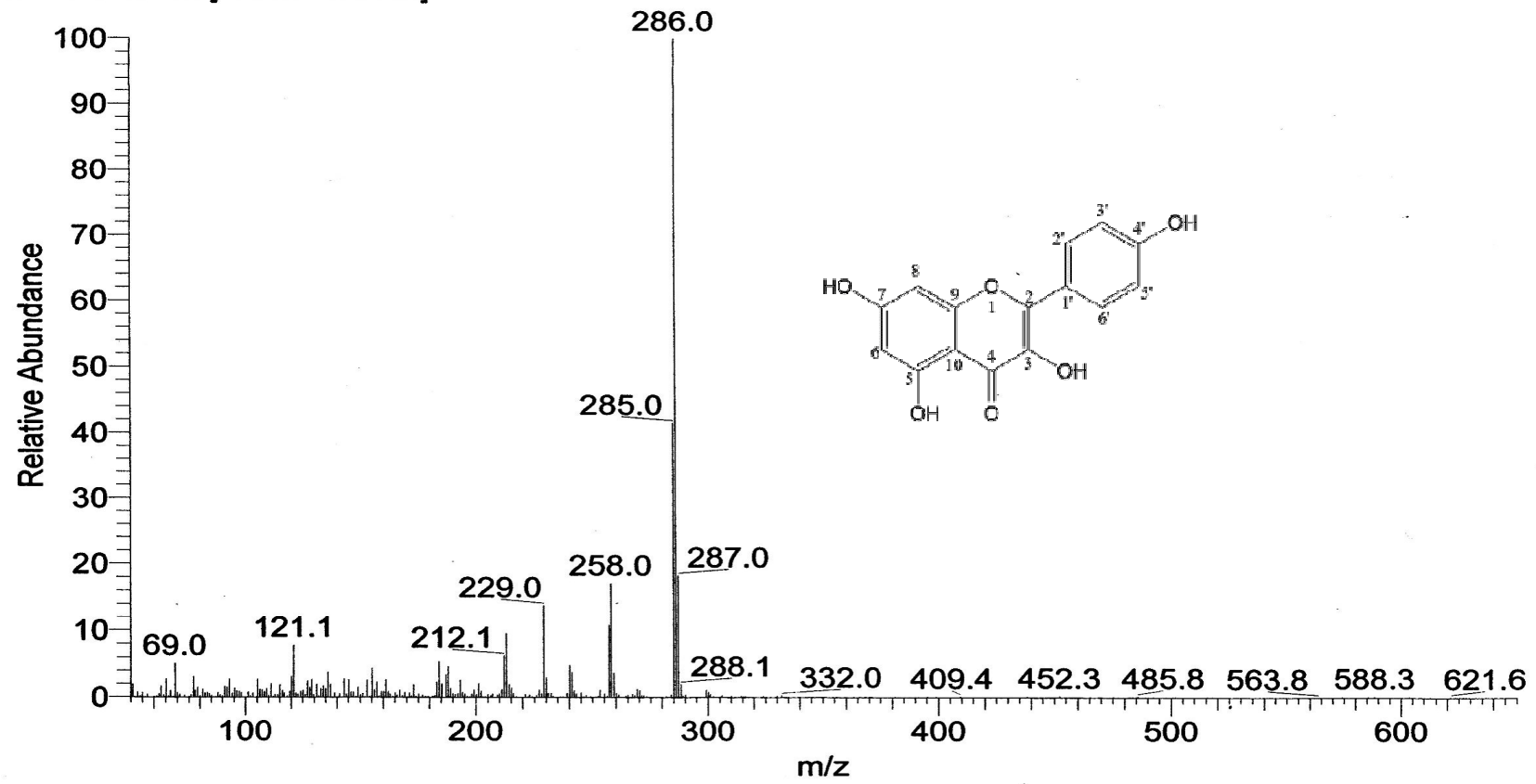
Rajah 4.13 : Spektrum Jisim Sebatian Kimia CT-1



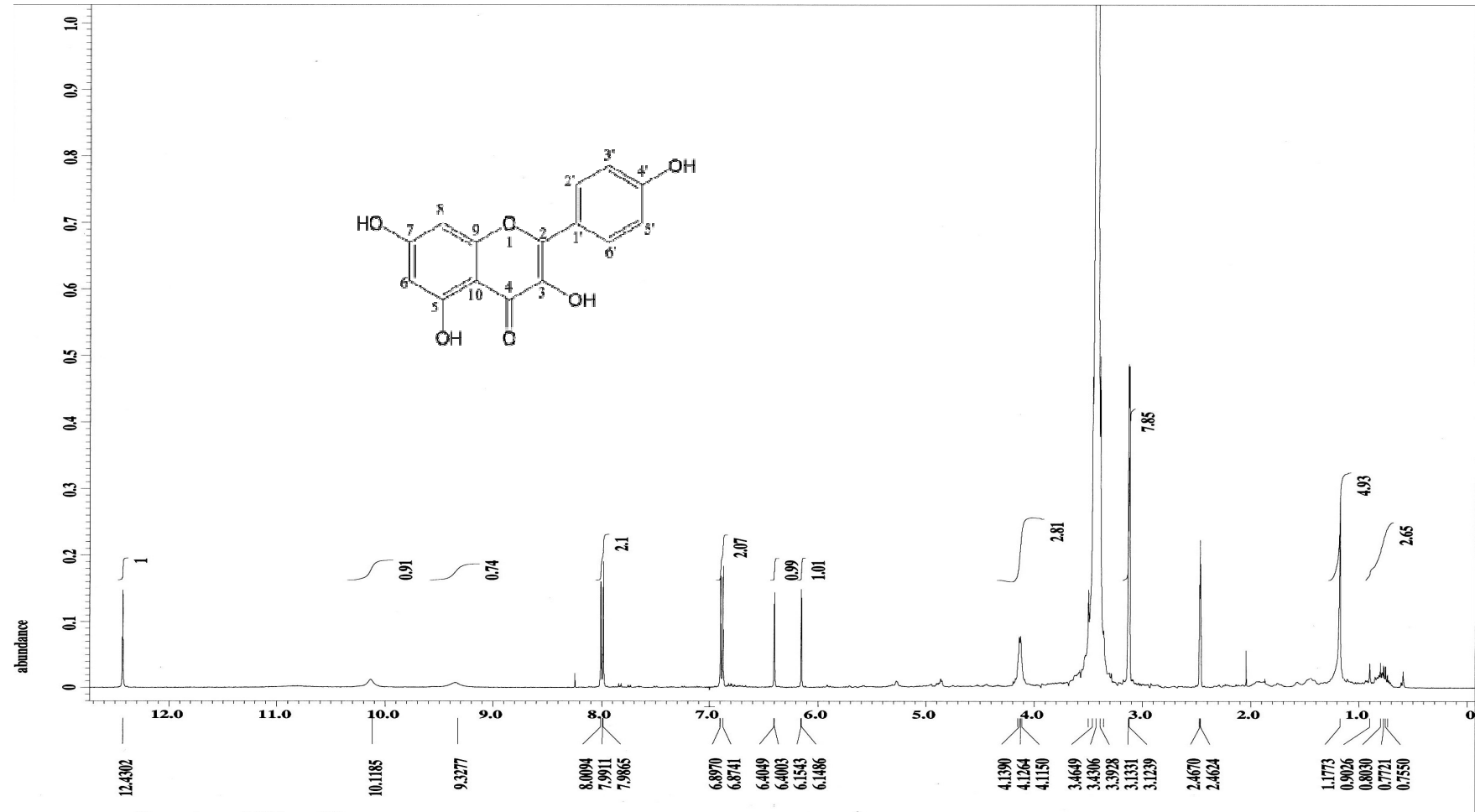
Rajah 4.14 : Spektrum UL Sebastian Kimia CT-16



Rajah 4.15 : Spektrum Jisim Sebatian Kimia CT-16



Rajah 4.16 : Spektrum RMN¹H Sebatian Kimia CT-16



Rajah 4.17 : Spektrum RMN¹³C Sebatian Kimia CT-16

